

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fibrosis Hati

2.1.1 Epidemiologi dan Etiologi

Fibrosis hati adalah akibat dari kerusakan yang kronis pada hati dengan akumulasi protein ECM yang merupakan karakteristik dari hampir seluruh tipe dari penyakit hati kronis. Penyebab utama fibrosis hati pada negara-negara industri meliputi infeksi HCV kronis, penyalahgunaan alkohol, dan *Non Alcoholic Steatohepatitis* (NASH). Pada kasus ini akumulasi protein ECM merusak arsitektur hati dengan membentuk jaringan parut fibrosa yang dalam perkembangannya nodul pada hepatosit itu dapat didefinisikan sebagai sirosis. Sirosis hati menyebabkan disfungsi pada sel hepatosit dan meningkatkan resistensi pada aliran darah yang akhirnya menyebabkan insufisiensi dan hipertensi portal (Gines, *et all.*, 2004).

Pada saat ini NASH merupakan penyebab yang paling sering menginisiasi fibrosis hati. NASH merupakan sebuah gejala yang mengikuti penyakit metabolit seperti obesitas, diabetes melitus tipe 2, dan dislipidemia dengan resistensi insulin. Selain itu juga diketahui bahwa beberapa obat – obatan dan bahan kimia juga merupakan salah satu penyebabnya (Brunt, 2004).

Sirosis merupakan penyebab kematian terbanyak ke 14 di dunia dan terbanyak ke 4 di eropa tengah. Setiap taunya diperkirakan ada 1-3 juta orang

didunia meninggal, 170.000 per tahun di Eropa dan 33.539 per tahun di USA. Sirosis juga merupakan salah satu indikasi dari 5500 transplantasi hati pertahun di Eropa (Blachier,*et all.*, 2013).

2.1.2 Patogenesis Fibrosis

Fibrosis hepar merupakan hasil dari proses yang dinamik sebagai akibat dari tidak seimbangnya sintesis dan degradasi *Extracellular Matrix* (ECM). Fibrosis hepar diawali dengan paparan jejas yang dapat menyebabkan rusak atau apoptosit dari hepatosit. Kerusakan dari hepatosit menyebabkan pelepasan sitokin proinflamatori *Transforming Growth Factor β 1* (TGF- β 1), *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α), *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) serta aktivasi sel Kupffer melalui *Toll-Like Receptor 4* (TLR4). Sitokin-sitokin tersebut menyebabkan aktivasi *Hepatic Stellate Cell* (HSC) yang normalnya berfungsi sebagai deposit vitamin A dalam hepar berdiferensiasi menjadi myofibroblas yang memproduksi protein matriks (Xu, 2012).

Fibrosis hepar merupakan hasil dari proses yang dinamik sebagai akibat dari tidak seimbangnya sintesis dan degradasi *extracellular matrix* (ECM). Fibrosis hepar diawali dengan paparan jejas yang dapat menyebabkan rusak atau apoptosit dari hepatosit. Kerusakan dari hepatosit menyebabkan pelepasan sitokin proinflamatori *Transforming Growth Factor β 1* (TGF- β 1), *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α), *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) serta aktivasi sel Kupffer melalui *Toll-Like Receptor 4* (TLR4). Sitokin-sitokin tersebut menyebabkan aktivasi *Hepatic Stellate Cell* (HSC) yang

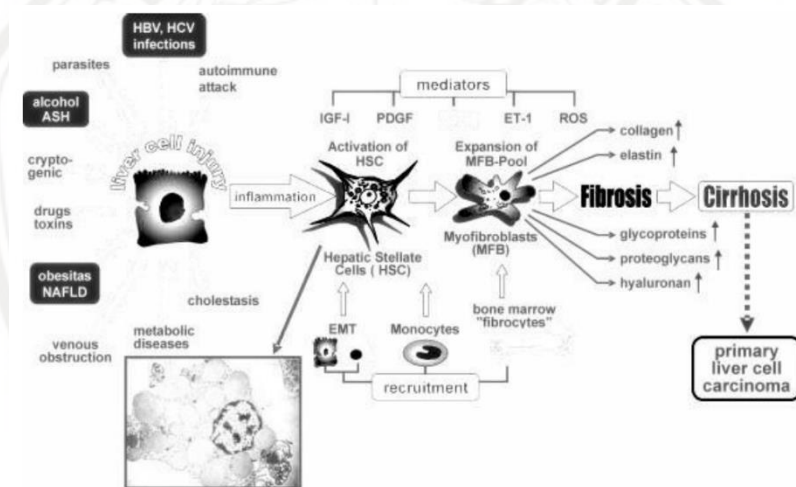
normalnya berfungsi sebagai deposit vitamin A dalam hepar berdiferensiasi menjadi myofibroblas yang memproduksi protein matriks (Xu, 2012).

HSC yang teraktivasi memproduksi glikoprotein, glikans, dan kolagen. Selama perkembangan terjadinya fibrosis, *Extracellular Matrix* (ECM) dipenuhi oleh protein-protein tersebut dengan kolagen tipe 1 sebagai volume terbanyak. Selain protein ECM, HSC juga memproduksi *Matrix Metalloproteinase* (MMP) yang berfungsi untuk mendegenerasi tumpukan kolagen di ECM sehingga pada posisi ini fibrosis hepar memiliki potensi reversibel. Produksi MMP akan meningkat bila sumber jejas dihilangkan sehingga stress oksidatif menurun. Namun apabila sumber jejas dibiarkan terus-menerus dan semakin banyak hepatosit yang mati, HSC akan memproduksi *Tissue-Inhibitor Matrix Metalloproteinase* (TIMP) yang bekerja dengan menghambat MMP dan mempertahankan jaringan ikat kolagen di ECM (Lingwal, 2015). Jaringan ikat kolagen di ECM berfungsi mempertahankan arsitektur hepar disaat banyaknya sel hepar yang mati. Proses ini menyebabkan jaringan parenkim hepar akan digantikan oleh jaringan ikat, dimana prosesnya akan berjalan perlahan, dan dapat menuju sirosis hepar (Lee, 2011).

2.1.3 Regresi Fibrosis

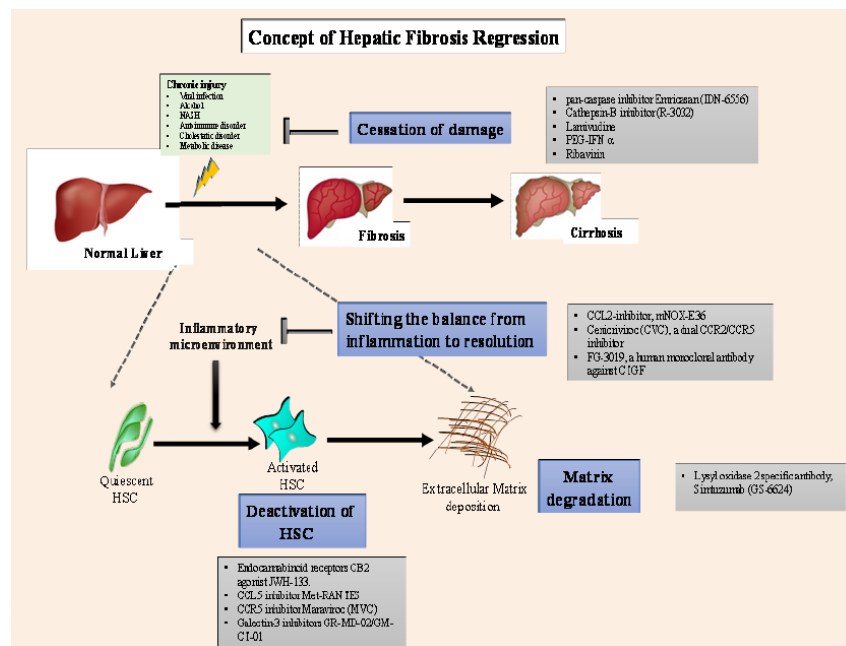
Mekanisme regresi dari fibrosis hepar dapat disebabkan oleh aktivitas dari sel *Natural Killer* (NK) yang dapat menginisiasi apoptosis dari HSC. Mekanisme sel NK dalam inisiasi apoptosis HSC adalah melalui *TNF-related apoptosis-induced ligand* (TRAIL). Pada keadaan akut keseimbangan jaringan dalam hepar masih stabil dimana aktivasi sel Kupffer, HSC, produksi kolagen, dan jumlah

kematian hepatosit masih bisa ditopang serta dikendalikan sehingga aktivitas dari sel NK dalam menginisiasi apoptosis HSC masih dapat terjadi. Namun dalam kondisi kronis jumlah hepatosit yang mati semakin meningkat menyebabkan aktivasi sel Kupffer yang berlebihan dimana sel Kupffer berfungsi mengaktivasi HSC melalui TLR4 dan melepaskan TGF- β 1. Pelepasan TGF- β 1 menekan aktivitas sel NK sehingga fungsinya dalam mengendalikan apoptosis HSC tidak dapat dilakukan dan hal ini dapat menuju fibrosis yang progresif (Seki, 2015).



Gambar 2.1. Mekanisme aktivasi HSC dalam fibrogenesis

Aktivasi dari HSC merupakan awal dari fibrogenesis, dimana HSC berdiferensiasi menjadi sel myofibroblas yang berkontraktil. Jejas hepatosit yang menginisiasi sel Kupffer serta pelepasan mediator inflamasi adalah faktor yang mengaktivasi HSC. Aktivasi HSC meningkatkan produksi protein matriks ekstrasel seperti kolagen, glikoprotein dan glikans. (Lingwal, 2015)



Gambar 2.2. Konsep dari regresi fibrosis

Dalam proses terjadinya regresi fibrosis terdapat empat mekanisme yang dibutuhkan yaitu inhibisi faktor jejas, perubahan suasana inflamasi, deaktivasi HSC, dan degradasi *extracellular matrix*

2.1.4 Diagnosis

Biopsi hati merupakan gold standar dalam mendiagnosis fibrosis hati. Pemeriksaan histologis sangat berguna dalam menentukan penyebab dari fibrosis hati dan menentukan seberapa berat inflamasi beserta stage fibrosisnya. Staging pada fibrosis hati biasanya menggunakan Metavir (1-4) dan Ishak Score (0-6). Biopsi hati merupakan suatu tindakan yang invasif untuk pasien. Scoring dapat dilakukan juga dengan cara yang lebih mudah dan nyaman yaitu dengan penghitungan platelet, aminotransferase serum, prothrombin time dan protein serum (Regev, *et al.*, 2002)

Dalam diagnosis fibrosis hati dapat juga dilakukan imaging dengan menggunakan USG dan MRI. MRI dapat melihat perubahan dari parenkim hati

mulai dari kerusakan yang sedang hingga berat. Pada segi biaya, USG lebih direkomendasikan daripada MRI. Namun, ketelitian pada USG sangat bergantung pada operator (Callewaert, *et all.*, 2004).

2.1.5 Tatalaksana dan Pencegahan

Saat ini belum ada terapi standart untuk mengobati fibrosis hati. Tetapi, pada beberapa penelitian eksperimental mereka mencoba untuk menekan progresifitas dari fibrosisnya, namun belum pernah dicoba efikasinya pada manusia. Eliminasi dari faktor penyebab fibrosis hati juga merupakan tindakan yang efektif untuk menekan progresifitasnya. Strategi ini lebih efektif untuk sebagian besar penyakit kronis pada hati (Arthur, 2002)

Pada pasien dengan sirosis dan sudah mengalami komplikasi transplantasi hati adalah satu satunya terapi yang dapat diambil. Transplantasi dapat meningkatkan kualitas hidup pada pasien sirosis. Namun pada pasien dengan sirosis akibat HCV, virus biasanya dapat rekuren setelah transplantasi (Arthur, 2002).

Penekanan pada reaksi inflamasi juga merupakan salah satu strategi dalam terapi fibrosis hati. Pemberian antiinflamasi merupakan salah satu pilihan dalam terapi fibrosis hati. Pemberian kortikosteroid hanya diindikasikan untuk pasien fibrosis hati akibat autoimun dan hepatitis alkoholik akut. Antioksidan juga memberikan sebuah efek yang baik dalam menangani fibrosis hati akibat NASH dan hepatitis alkoholik. Dengan mengganggu sintesis dari TGF yang bertugas untuk membentuk jaringan parut fibrosa ini dapat secara langsung mengurangi fibrosis pada hati (Gressner, *et all.*, 2002)

2.2 Hati

2.2.1 Anatomi Histologi

Hati terdiri dari unit - unit heksagonal yang disebut sebagai lobulus hepaticus (hati) yang pada bagian tengah terdapat sebuah vena sentralis, yang dikelilingi oleh lempeng sel hati yaitu hepatosit, dan sinusoid kearah perifer. Pada manusia biasanya ditemukan tiga sampai enam daerah porta setiap lobulus (Eroschenko, 2008).

Hepatosit dipisahkan oleh sinusoid yang tersusun melingkari eferen vena hepatica dan duktus hepaticus. Membran hepaticus berhadapan dengan sinusoid yang memiliki banyak mikrofili. Permukaan lateral hepatosit memiliki sambungan penghubung dan desmosom yang saling bertautan. (Amirudin, 2009)

Sinusoid hati adalah saluran darah dilapisi sell endotel berfenestra yang dipisahkan oleh spatium perisinusoideum subendotelial(*Disse*). Dengan begitu, maka zat makanan yang mengalir dalam sinusoid dapat dialirkan melalui dinding endotel yang tidak utuh dengan hepatosit. Struktur yang berliku pada hati sangat memungkinkan untuk pertukaran zat yang efisien antara hepatosit dan darah (Eroschenko, 2008). Hal ini dikarenakan lapisan endotel sinusoid vena mempunyai pori – pori yang sangat besar diantaranya berdiameter hampir 1 mikrometer.(Guyton, et all., 2011).

Selain itu hati juga memiliki makrofag yang disebut sel Kupffer yang terletak pada sisi luminal sel endotel.

2.2.2 Fisiologi

Hati merupakan suatu kumpulan besar sel reaktan kimia dengan laju metabolisme yang tinggi, dengan saling memberikan substrat dan energy dari satu sistem metabolisme ke sistem yang lain dengan mengolah dan menyintesis bermacam – macam zat yang diangkut ke daerah tubuh yang lain (Guyton, et al., 2011). Sirkulasi vena porta hepatis menyuplai kurang lebih sebesar 75% dari suplai asinus sangat menyimpan peranan penting dalam fisiologi hati terutama dalam metabolisme bahan-bahan penyuplai energi seperti karbohidrat, lemak dan protein.(Amirudin, 2009)

2.2.3 Jejas dan Proses Inflamasi pada Hati

Inflamasi kronis adalah reaksi inflamasi yang merupakan lanjutan dari inflamasi akut. Hal ini disebabkan oleh antigen penyebab inflamasi menetap sehingga menyebabkan reaksi inflamasi yang berkelanjutan. Reaksi inflamasi inilah yang menyebabkan munculnya perlemakan pada hati yang merupakan tanda dari kerusakan pada sel hepar. Munculnya sel lemak inilah yang merupakan tanda awal dari fibrosis hati yang ditandai dengan munculnya jaringan parut yang merupakan respon dari hati dalam mengatasi inflamasi (Kumar, 2013)

Inflamasi kronis tidak lepas dari respon respon biologi sel serta fungsi fungsi mereka, antara lain makrofag. Makrofag adalah sel yang dominan ada pada inflamasi kronis yang merupakan perubahan dari monosit setelah melakukan emigrasi dari aliran darah. Makrofag bekerja sebagai penyaring partikel penyebab masalah, mikroba, sel tua, untuk memperingatkan komponen

spesifik dari sistem imun adaptif. Aktivasi dari makrofag-makrofag itu mensekresikan variasi biologi akut dan fibrosis yang dikarakteristikkan sebagai inflamasi kronis. Hasil produknya antara lain adalah:

1. Protease asam dan netral. Enzim lain seperti aktivator plasminogen, memperkuat substansi protein inflamasi.
2. ROS dan NO
3. AA Metabolit
4. Sitokin seperti IL 1, TNF dan produksi ECM.

Setelah stimulus tadi dieliminasi dan reaksi inflamasi mereda, makrofag mati atau berjalan ke sistem limfatik. Akan tetapi pada daerah inflamasi kronik, akumulasi makrofag persisten, dan makrofag dapat berproliferasi. Pengeluaran kemokin dari derivat limfosit dan sitokin lain adalah sebuah mekanisme penting yang membuat makrofag masuk dan tidak dapat bergerak di daerah inflamasi. IFN- γ dapat juga menginduksi makrofag untuk menjadi besar, sel multinukleat disebut sel raksasa (Kumar, 2013).

2.3 Jinten Hitam (*Nigella Sativa*)

Jinten hitam (*Nigella sativa*) dipercaya berasal dari daerah Mediterania namun saat ini telah dikembangkan di berbagai belahan dunia, termasuk Arab Saudi, Afrika Utara, dan sebagian Asia. Jinten hitam juga dikenal sebagai *black cumin*, *fennel flower*, *Nutmeg flower*, *Roman coriander*, *black seed*, *black caraway*, *black onion seed*, *kalonji*, *habatussauda*, dan *habbat albarakah*.

(biji barakah) (Ramadan & Morsel, 2001). Tumbuhan ini telah digunakan sebagai obat tradisional atau rempah-rempah dari minyak yang diperoleh dengan cara diperas oleh orang-orang Asia, Timur tengah, dan Afrika (Attia, 2008). Secara tradisional biji jintan hitam telah digunakan selama berabad-abad di Asia, Timur Tengah dan Afrika untuk mengobati penyakit yang berhubungan dengan pernafasan, perut, saluran pencernaan, fungsi ginjal dan liver, membantu sirkulasi darah dan sistim imun. Minyak jintan hitam digunakan untuk mengobati sakit kulit seperti eksem dan gejala panas-dingin. Banyak penelitian yang dilakukan untuk mengetahui lebih jauh tentang manfaat dari tanaman ini dikarenakan kandungan zat aktif pada tanaman ini sangatlah banyak dan berpotensi untuk menjadi obat dimasa yang akan datang (Badan POM RI, 2009).

2.3.1 Taksonomi dan Morfologi Jinten Hitam

Berdasarkan ilmu toksonomi dan klasifikasi tumbuhan jintan hitam dikelompokkan sebagai berikut :

Kerajaan (Kingdom)	: Plantae
Divisi (Division)	: Magnoliophyta
Kelas (Class)	: Magnoliopsida
Bangsa (Order)	: Ranunculales
Suku (Family)	: Ranunculaceae
Marga (Genus)	: <i>Nigella</i>
Jenis (Species)	: <i>N. sativa</i> (Sharma, et.al., 2009)

2003). Minyak esensialnya terdiri atas beberapa komponen, tetapi yang terbanyak adalah thymoquinone (27,8%-57%), p-cymene (7,1-15,5%), carvacrol (5,8%-11,6%), t-anethole (0,25%-2,3%), 4-terpineol (2%-6,6%) dan longifoline (1%-8%) (Burits & Buchar dalam Ali & Blunden, 2003), derivat terpene yang juga ditemukan yaitu sitranelol, carvone, dan limonene (Sharma, et.al., 2009).

2.3.3 Kegunaan Biji Jinten Hitam

2.3.3.1 Antiinflamasi

Biji dan minyak jinten hitam berfungsi efektif sebagai agen antiinflamasi. Telah ditegaskan bahwa thymoquinone, nigellone, dan thymohydroquinone berperan sebagai antiinflamasi. Nigellone dalam dosis rendah terbukti efektif menghambat pengeluaran histamin yang diinduksi oleh antigen dan calcium ionosphores. Mekanisme aksinya dengan menghambat protein kinase-C dan mengurangi konsentrasi kalsium intraseluler. *Fixed oil* mentah dari jinten hitam berperan menghambat jalur siklooksigenase dan 5-lipoksigenase dari metabolisme asam arakidonat pada leukosit peritoneal tikus yang diinduksi *calcium ionosphere*, tetapi aktivitasnya lebih bagus dibandingkan dengan hanya menggunakan thymoquinone (Malhotra, 2012).

Pada penelitian sebelumnya, uji carvacrol pada tikus wistar model edema tungkai menunjukkan bahwa carvacrol memberikan efek antiinflamasi dengan cara menurunkan IL-1 β yang mempengaruhi ekspresi COX-2 mRNA dan prostaglandin E(2)₂ (Lima, et.al., 2013). Selain itu *Panax notoginseng* (PNS) yang banyak mengandung saponin juga terbukti dapat menurunkan IL-1 β

dengan cara mansupresi NF-kb pada sel yang distimuli LPS-RAW264.7 pada liver tikus (Xu, et.al., 2015).

Penelitian terdahulu juga membuktikan bahwa limonene berpotensi sebagai antiinflamasi dengan menurunkan IL-1 β karena limonene dengan dosis sedang (14,68 mmol/L) mengurangi produksi MCP-1 via aktivasi NF-kappa B yang dapat menghambat produksi dari sitokin (Hirota, et.al., 2010). Selain zat-zat di atas, thymoquinone juga terbukti mensupresi induksi adjuvan dengan menurunkan IL-1 β pada tanda inflamasi cakar tikus model arthritis (Takeoglu, et.al., 2007).

2.2.3.2 Antioksidan

Biji dan ekstrak jinten hitam telah terbukti berperan sebagai antioksidan karena memberikan efek proteksi pada kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi. Musa et.al dalam Malhotra (2012) membuktikan bahwa ekstrak etanol dari jinten hitam. Kemudian Ibraheem (2010) melaporkan bahwa jinten hitam memiliki efek antagonis terhadap kalsium, serta berfungsi sebagai antioksidan, keduanya berperan penting dalam manajemen suatu penyakit. Noor dan Mourad (2010) membuktikan bahwa minyak jinten hitam memiliki efek antioksidan pada induksi oksidatif stres yang berupa Monosodium Glutamate (MSG) pada otak tikus, dan ekstraknya juga dapat mencegah perburukan akibat stres oksidatif.

2.2.3.3 Antifibrotik

Mekanisme efek antifibrotik dari ekstrak jinten hitam adalah dengan menurunkan ekspresi *toll-like receptor* (TLR4) pada sel Kupffer, dan

menghambat *lipid peroxidase*, serta meningkatkan ekspresi *TNF-related apoptosis-induced ligand* (TRAIL) dalam aktivasi sel *natural killer* (NK). Seluruh mekanisme tersebut bertujuan untuk membuat *hepatic stellate cell* (HSC) apoptosis, sehingga menurunkan TIMP serta meningkatkan MMP. Dengan demikian fibrosis yang sudah terbentuk dapat menjadi terdegradasi (Bai, 2014).

2.4 Karbon Tetraklorida (CCL₄)

Carbon tetrachloride adalah senyawa kimia dengan rumus molekul CCL₄. Carbon tetrachloride berupa cairan bening mudah menguap dan berbau khas. Laporan kasus keracunan carbon tetrachloride didapat dari investigasi kasus bunuh diri menggunakan carbon tetrachloride. Dari hasil pemeriksaan carbon tetrachloride toksik terhadap hati dan ginjal. Pada hati kerusakan terjadi pada 24 jam pertama, pada ginjal terdeteksi setelah 1-6 hari tetapi paling sering 2-3 minggu setelah keracunan. Karbon tetraklorida merupakan senyawa yang bersifat toksik

2.4.1 Mekanisme hepatoksisitas karbon tetraklorida

Karbon tetrachloride di dalam tubuh akan mengalami proses biotransformasi oleh enzim CYP2E1 membentuk radikal bebas yaitu radikal triklorometil (CCl₃). Radikal ini kemudian akan bereaksi dengan oksigen dan membentuk radikal triklorometil peroksi (OCCl₃) yang lebih reaktif (WHO, 2004). Radikal triklorometil dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sitokrom P-450. Radikal triklorometil akan berikatan secara kovalen dengan lemak microsomal dan protein, dan akan bereaksi secara langsung dengan

membrane fosfolipid dan kolesterol. Reaksi ini juga menghasilkan kloroform, yang merupakan salah satu metabolit dari karbon tetraklorida. Selain itu radikal triklorometil dapat menginisiasi terjadinya radikal lipid yang menyebabkan terbentuknya lipid hidroperoksida (LOOH) dan radikal lipid alkoksil (LO) melalui proses fragmentasi, radikal lipid alkoksi tersebut akan diubah menjadi malondialdehid. Senyawa aldehyd inilah yang akan menyebabkan kerusakan pada membran plasma dan meningkatkan permeabilitas membran (WHO, 2004).

